

TP 02 : Chromatographie de colorants alimentaires

But : Comprendre les principes théoriques de la chromatographie – Mettre en œuvre et interpréter une chromatographie

Matériel et Produits :

- Papier pour chromatographie (ou plaque CCM) – bécher – verre de montre – pince à épiler.
- Colorants : bleu patenté (E 131), jaune (E102), vert.
- Éthanol, solution aqueuse de chlorure de sodium (40 g /L)

I- Principe de la chromatographie.

- La chromatographie permet de séparer les espèces chimiques présentes dans un mélange homogène.
- Elle est basée sur la différence de solubilité d'une substance dans deux phases non miscibles : **la phase stationnaire** (ou fixe) et **la phase mobile**.

1)- La phase stationnaire.

- Dans la chromatographie sur papier, la phase fixe est constituée par de la cellulose ou par une fine couche de silice hydratée.
- Ce « papier » sert de support à la phase mobile.

2)- La phase mobile ou éluant.

- C'est un solvant dans lequel les constituants du mélange sont plus ou moins solubles.
- L'éluant migre le long de la phase fixe par capillarité en entraînant plus ou moins fortement les constituants d'un mélange à analyser.
- C'est le phénomène d'élution.
- Remarque :
- L'éluant ne doit pas réagir avec les constituants à analyser.
- Il est choisi en fonction de son attitude à dissoudre différemment les constituants du mélange à analyser.

3)- Vitesse de déplacement ou rapport frontal R_f .

- La séparation des composants, entraînés par la phase mobile résulte de leur différence de solubilité entre les deux phases.
- Les composés dissous déposés se fixent sur la phase fixe pour s'en arracher et monter avec la phase mobile.
- Chaque constituant du mélange se déplace avec sa propre vitesse derrière le front du solvant.

- Une fois la migration terminée, on détermine pour chaque constituant, la vitesse de déplacement ou le rapport frontal R_f .

Distance parcourue par le constituant (milieu de la tache)

$R_f =$

Distance parcourue par le front du solvant

II- Technique de la chromatographie sur couche mince (C.C.M).

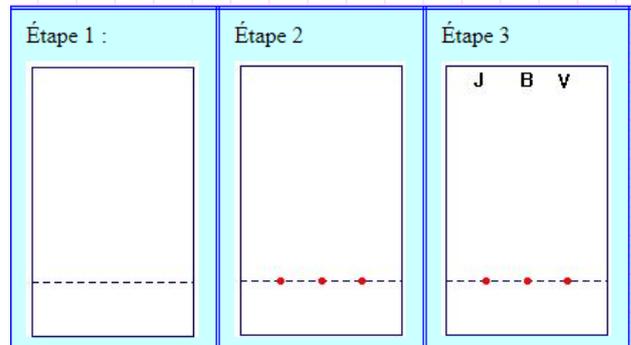
1)- Introduction.

- **La phase fixe :**
- On travaille avec plus de finesse en utilisant une phase fixe élaborée :
- Il s'agit d'un absorbant en poudre (alumine, silice, ...) déposé dans un gel en couche fine sur un support (plaque d'aluminium, verre, film plastique, ...).
- **La phase mobile :**
- C'est toujours un éluant liquide choisi en fonction de l'absorbant et des composés à séparer.

2)- Mode opératoire :

a)- La plaque pour chromatographie (plaque de silice de 20 x20 cm découpée en petites plaques de 5cm x3 cm):

- Pendre une plaque pour chromatographie 5 cm x 3 cm (environ). Ne pas toucher avec les doigts.
- Tracer délicatement au crayon de papier un trait léger à 1 cm du bas de la feuille.
- Déposer les gouttes de substance à analyser sur le trait à l'aide de piques en bois (une petite goutte de colorant jaune **J**, une petite goutte de colorant bleu **B** et une petite goutte de colorant vert **V**).
- Chaque dépôt doit être espacé d'un cm au moins.
- Repérer en haut de la feuille la position et la nature des différents dépôts.



b)- L'éluant :

- Il est placé dans un bécher de 100 mL (Prendre un bécher de 100 mL et verser 1 mL d'éthanol et 5 mL d'une solution aqueuse de chlorure de sodium à 40 g / L.).
- La hauteur de l'éluant dans le bécher doit être faible afin de ne pas immerger les différents dépôts.
- Couvrir le bécher d'un verre de montre afin de saturer l'intérieur du bécher en vapeur d'éluant.

c)- Réalisation de la chromatographie :

- On place la plaque côté trait de crayon vers le bas dans le bécher et on recouvre du verre de montre.
- Laisser monter l'éluant jusqu'à 1 cm du haut de la plaque environ.
- Sortir la plaque délicatement et la laisser sécher (ou utiliser un sèche cheveux).

d)- Révélation :

- Repérer avec un crayon de papier la position finale de l'éluant.
- Calculer le rapport frontal R_f pour chaque constituant.